



06.03.03 הופק בתאריך:

דו"ח דיווח מדעי

=====

קוד זיהוי : 132-1029-02

נושא המחקר: קולטוריקום בכלנית ולימוניום.

סוג דו"ח : דו"ח מדעי סופי

חוקר ראשי : פרימן סטנלי

מינהל המחקר החקלאי

חוקרים משניים: קטן תלמה

מינהל המחקר החקלאי

מימון מרסל

מינהל המחקר החקלאי

ניצני יהודה

מינהל המחקר החקלאי

ענו דליה

משרד החקלאות ופיתוח הכפר

לוריא גדעון

משרד החקלאות ופיתוח הכפר

צויבל אאידה

מינהל המחקר החקלאי

צוברי גבראל

מו"פ ערבה

פיבוניה שמעון

מו"פ ערבה

זקס מלי

משרד החקלאות ופיתוח הכפר

אוקו אורנה

משרד החקלאות ופיתוח הכפר

מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח:

80,000

קרן מדען ראשי

תקציר הדו"ח:

תקציר (חלק א' - קולטוריקום בכלנית)

1. הצגת הבעיה:

מחלת האנתרקנוז בכלנית, הנגרמת ע"י הפטריה קולטוריקום, הופיעה לראשונה בארץ בשנת 1978, ומאז הופיעה מדי פעם ולא בכל עונה. הגורם זוהה ב-1998 כ-*Colletotrichum acutatum*, מין שנפוץ בארץ ומחולל גם את מחלת האנתרקנוז בתות שדה.

2. מהלך ושיטות עבודה:

התקבל חומר צמחי נגוע במחלה במעבדתו של פרימן. נבדקה טיפולי הדברה בעזרת פרוכלורז. בודדו מספר רב של תבדידים במהלך שנות 2000 עד 2002 מחומר צמחי נגוע במחלה מהשדה על מצע סלקטיבי לקולטוריקום. 3. תוצאות עיקריות

אומת שתבדידים אלה אכן שייכים למין *C. acutatum*. תבדידים אלה הושוו ונמצאו זהים לאלה מתות שדה, בשיטות מורפולוגיות ומולקולריות. נערכו ניסויי שדה לבחינת השפעת

החומר פרוכלורז על המחלה והצמח מבחינה פיטוטוקסית ומחלה בפקעות, כשחומר זה הוכיח את עצמו בהדברת גורם המחלה בתות שדה. נמצא שתבדידי *C. acutatum* מכלנית גורמים מחלה

בתות שדה וההפך, תבדידי הפתוגן מתות שדה ממיתים צמחי כלנית. לא נמצאו צמחי כלנית בה

נגועים במחלה בסיורים שנערכו באביב וחורף בעת ביצוע המחקר משנת 2000 עד תחילת 2003. 4. מסקנות והמלצות: למרות שנמצא חומר יעיל, פרוכלורז, להדברת גורם המחלה,

השימוש בריכוזים גבוהים של החומר גורם לפיטוטוקסיות בצמחי כלנית, ובעתיד יכול לגרום לסלקציה לאוכלוסייה עמידה. למרות שעד עתה לא נמצא גורם המחלה בכלנית הבר

(בחיפושים שערכנו בשנות 2000 עד 2003) נמשיך לבחון האם מחלה זו יכולה להופיע בכלנית בר.

תקציר (חלק ב' - קולטוריקום בלימוניום)

1. הצגת הבעיה: בעת האחרונה גרמה ההתמוטטות צמח הלימוניום בערבה לנזקים כבדים. גורם ההתמוטטות הוגדר *Colletotrichum spp*, לאחר ביצוע מבחן קוך. מטרות הינן:

לימוד על ביולוגיית הגורם ומציאת טיפולי הדברה יעילים כנגד גורם המחלה.

2. מהלך, שיטות עבודה: נאספו כ-100 תבדידי הפתוגן בערבה ומקומות נוספים וגורם המחלה הוגדר כ-*C. gloeosporioides* בשיטות מורפולוגיות, VCG ומולקולריות. הוחל

מקורות מימון עבורם מיועד הדו"ח:

תקציר הדו"ח:

בבחינת חומרי הדברה in vitro ו-in vivo והוחל בשימוש ניסיוני של חומר הדברה אוקטב. נוסה שיטה להדברה ביולוגית של גורם המחלה באמצעות תבדידי ריזוקטוניה בלתי פתוגניים. כמוכן, נוסתה שיטה להשקיה בטפטוף טמון להפחתת אינוקולום של הפטריה. 3. תוצאות עיקריות: נמצאו מספר גנוטיפים וקבוצות VCG שונים מבין אוכלוסיית הפתוגן. המדביר הביולוגי לא היה יעיל בהפחתת חומרת המחלה. השקיה בטפטוף טמון הפחיתה את אחוז המחלה. בודד השלב המיני של גורם המחלה. 4. מסכנות והמלצות: טפטוף טמון יכול להשפיע על הפחתת הפיזור של האינוקולום. מציאת השלב המיני יכול לתרום לשונות הגנטית שקיימת.

חתימות ואישורים:

16.3.03	17.3.03			
אשר (ויצט)	אשר (ויצט)	אשר (ויצט)	אשר (ויצט)	אשר (ויצט)
תאריך	היחידה לתכנות עבודה ותקציב	אמרכלות	מנהל המכון	מנהל המחלקה
				חוקר ראשי

דו"ח מסכם לתכנית מחקר מספר 132-1029

קולטוטריכום בכלנית ולימוניום

*Colletotrichum* in anemone and limonium

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

סטנלי פרימן, מרסל מימון, יהודה ניצני, המחלקה למחלות צמחים, מנהל  
המחקר החקלאי, בית דגן (חלק א' – כלנית; חלק ב' – לימוניום); שמעון  
פיבוניה, רחל לויטה, גבי צוברי, מו"פ ערבה; מלי זקס שה"מ (חלק ב' –  
הלימוניום)

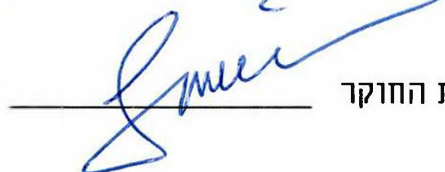
Stanley Freeman, Dept. of Plant Pathology, ARO, The Volcani Center,  
Bet Dagan 50250. E-mail: freeman @ volcani.agri.gov.il

מרץ, 2003

אדר תשס"ג

הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקר



X

## תקציר (חלק א' - קולטוטריכום בכלנית)

### 1. הצגת הבעיה:

מחלת האנתרקנוס בכלנית, הנגרמת ע"י הפטריה קולטוטריכום, הופיעה לראשונה בארץ בשנת 1978, ומאז הופיעה מדי פעם ולא בכל עונה. הגורם זוהה ב- 1998 כ- *Colletotrichum acutatum*, מין שנפוץ בארץ ומחולל גם את מחלת האנתרקנוס בתות שדה.

### 2. מהלך ושיטות עבודה:

התקבל חומר צמחי נגוע במחלה במעבדתו של פרימן. נבדקה טיפולי הדברה בעזרת פרוכלור. בודדו מספר רב של תבדידים במהלך שנות 2000 עד 2002 מחומר צמחי נגוע במחלה מהשדה על מצע סלקטיבי לקולטוטריכום.

### 3. תוצאות עיקריות

אומת שתבדידים אלה אכן שייכים למין *C. acutatum*. תבדידים אלה הושוו ונמצאו זהים לאלה מתות שדה, בשיטות מורפולוגיות ומולקולריות. נערכו ניסויי שדה לבחינת השפעת החומר פרוכלור על המחלה והצמח מבחינה פיטוטוקסי ומחלה בפקעות, כשחומר זה הוכיח את עצמו בהדברת גורם המחלה בתות שדה. נמצא שתבדידי *C. acutatum* מכלנית גורמים מחלה בתות שדה וההפך, תבדידי הפתוגן מתות שדה ממיתים צמחי כלנית. לא נמצאו צמחי כלנית בר נגועים במחלה בסיורים שנערכו באביב וחורף בעת ביצוע המחקר משנת 2000 עד תחילת 2003.

4. מסקנות והמלצות: למרות שנמצא חומר יעיל, פרוכלור, להדברת גורם המחלה, השימוש בריכחים גבוהים של החומר גורם לפיטוטוקסיות בצמחי כלנית, ובעתיד יכול לגרום לסלקציה לאוכלוסייה עמידה. למרות שעד עתה לא נמצא גורם המחלה בכלנית הבר (בחיפושים שערכנו בשנות 2000 עד 2003) נמשיך לבחון האם מחלה זו יכולה להופיע בכלנית בר.

## תקציר (חלק ב' - קולטוטריכום בלימוניות)

1. הצגת הבעיה: בעת האחרונה גרמה ההתמוטטות צמח הלימוניות בערבה לנזקים כבדים. גורם ההתמוטטות הוגדר *Colletotrichum spp.*, לאחר ביצוע מבחן קוך. מטרות הינן: לימוד על ביולוגיית הגורם ומציאת טיפולי הדברה יעילים כנגד גורם המחלה.

2. מהלך, שיטות עבודה: נאספו כ- 100 תבדידי הפתוגן בערבה ומקומות נוספים וגורם המחלה הוגדר כ- *C. gloeosporioides* בשיטות מורפולוגיות, VCG ומולקולריות. הוחל בבחינת חומרי הדברה *in vitro* ו- *in vivo* והוחל בשימוש ניסיוני של חומר הדברה אוקטב. נוסה שיטה להדברה ביולוגית של גורם המחלה באמצעות תבדידי ריזוקטוניה בלתי פתוגניים. כמוכן, נוסתה שיטה להשקיה בטפטוף טמון להפחתת אינוקולום של הפטריה.

3. תוצאות עיקריות: נמצאו מספר גנוטיפים וקבוצות VCG שונים מבין אוכלוסיית הפתוגן. המדביר הביולוגי לא היה יעיל בהפחתת חומרת המחלה. השקיה בטפטוף טמון הפחיתה את אחוז המחלה. בודד השלב המיני של גורם המחלה.

4. מסכנות והמלצות: טפטוף טמון יכול להשפיע על הפחתת הפיזור של האינקולום. מציאת השלב המיני יכול לתרום לשונות הגנטית שקיימת.

### ב. מבוא ומטרת המחקר (חלק א' – קולטוטריכום בכלנית)

מחלת האנתרקנוז בכלנית, הנגרמת ע"י הפטריה קולטוטריכום, הופיעה לראשונה בארץ בשנת 1978, ומאז הופיעה מדי פעם ולא בכל עונה. הגורם זוהה ב- 1998 כ- *Colletotrichum acutatum*, מין שנפוץ בארץ ומחולל גם את מחלת האנתרקנוז בתות שדה (Freeman et al., 2000). כמוכן, המחלה נפוצה באזורי גידול כלניות באירופה, כגון, אנגליה, הולנד ואיטליה. ברוב עונות הגידול הופיע קולטוטריכום כבר בחודש אוקטובר, ונמצא בפקעות ייבוא מהולנד. המחלה הופיעה בכל איזורי הגידול בארץ (הרי ירושלים, מרכז-בני ציון, ובציפורי בצפון). נשאלת השאלה האם אוכלוסיות הפטריה בארץ הינן ספציפיות לכל גידול או שאותה אוכלוסייה גורמת למחלה בגידולים שונים, והאם מחלה זו יכולה להופיע בכלנית בר. מאחר שפרחים ופקעות של כלנית מהווים תוצרי יצוא, קיימת חשיבות עליונה להבטיח שחומר זה יהיה נקי ממחלת הקולטוטריכום, שאם לא כן, עלול להיגרם מק (מעבר לכלכלי) לתדמיתה של מדינת ישראל כיצואנית חומר ריבוי איכותי.

### מטרות המחקר לחלק א'

1. בחינת מקור המדבק (האם המקור של גורם המחלה בפקעות ועשבים שכנים), ואם כלנית בר רגישה למחלה.
2. מציאת טיפול הדברה
3. בחינת ספציפיות לפונדקאי
4. אפיון תבדידים מכלנית

### ג. פירוט ניסויים ותוצאות

#### 1. בחינת מקור המדבק

בודדו מספר רב של תבדידים ישירות מפקעות (דבר המצביע על נגיעות במקור הצמחי). עיקר התבדידים בודדו מעלווה נגועה בשדה. ייתכן שהצמחים הנגועים אולחו ממוקדי צמחים שהיו מקור לאינוקולום. בשטחי תות שדה, נמצאו תבדידי *C. acutatum* בצמחי בר, קייצת ובקיה (הורוביץ, ס., שרון, ע., ופרימן, ס. 2001. תחום הפונדקאים וכושר ההישרדות של הפטריה *Colletotrichum acutatum* מתות שדה. גן שדה ומשק 65-61:8), דבר המצביע על אפשרות השרדות הפתוגן בעשבים אלה בקרבת כלנית. לא נמצאו צמחי כלנית בר נגועים במחלה בסיורים שנערכו באביב ובסתיו בין השנים 2000 עד 2003 אך ייתכן שעונת הגידול התרבותי אינו חופף את זו של טיפוס הבר.

#### 2. ניסוי לבדיקת פיטוטוכסיות והשפעת טבילת פקעות בפרוכלור להדברת גורם המחלה

הניסוי נערך בחלקת כלנית מן ירושלים שנשתלה במושב צלפון בספטמבר (גודל פקעות 4.5, 1500 פקעות לדונם), 2 שורות על ערוגה ברוחב 1.8 מ' השקיה בטפטוף. הניסוי הוצב בבולקים באקראי ב- 4 חזרות, גודל חזרה קטע ערוגה באורך 5 מ'. בטיפולים שנבחנו השוו בין האוקטב בריכחים שונים ובמרווחי ריסוס זהים, ניראה שעם העלייה בריכוז האוקטב קיימת עליה באחוז הפרחים הקצרים מ- 25 ס"מ. בהשוואה בין טיפולי האוקטב בריכוז שווה

ובמרווחי ריסוס שונים, ניראה שבטיפולים שרוססו כל 7 ימים נמצא אחוז גדול יותר של פרחים קצרים מ-25 ס"מ, למרות שההבדלים אינם מובהקים סטטיסטית. נבדקה טבילת פקעות כלנית לאחר המרצה (נביטה) בפרוכלורז (אוקטב) 0.2% למשך 10-15 דק' ולא התגלתה שום פיטוטוקסיות לצמח המתפתח. ריכוז זה מומלץ להדברת גורם המחלה בתות שדה ובמבחיני עיכוב בצלחות אוכלוסיית הפתוגן מכלנית מתנהג באופן דומה מבחינת רגישותו לחומר כמו האוכלוסייה מתות שדה. לא ידוע האם גורם המחלה נישא על פני או בתוך פקעות. מניסיונו, למדנו שאחוז הפקעות הנגועות הנו מערי (פחות מ-1%) ולכן בבדיקות מעבדה בהן נלקח מדגם מחומר הריבוי, הסיכוי למצוא את גורם המחלה הוא אפסי.

### 3. בבחינת רגישות כלנית לתבדידי תות בחממה

בניסויים בחממה הראינו שניתן לאלח באופן מלאכותי צמחי כלנית בתבדידים שמקורם מתות-שדה ולקבל מחלה האופיינית לאנתרקנז בכלנית. כמוכן, ניתן לאלח באופן מלאכותי צמחי תות שדה בתבדידים שמקורם מכלנית ולקבל מחלה האופיינית לאנתרקנז בתות-שדה. על מנת לבסס נתונים אלה, השתמשנו במספר רב של תבדידים (מתקופות בידוד שונות, 1978-1998) בכדי לאמת את הממצאים בתנאי חממה (Freeman et al., 2000).

### 4. בחינת הרכב האוכלוסייה

בהגברת DNA מאוסף תבדידי הפטרייה נמצא בעזרת תחלים ספציפיים למין שכל התבדידים שייכים למין *C. acutatum*, להבדיל מהעבר שהוגדרו כשייכים למין *C. gloeosporioides* (Freeman et al., 2000). בבחינת שונות גנטית של אוכלוסיית הפתוגן קיימים לפחות שני גנוטיפים שונים לפי שיטת ה-ap-PCR בהגברה אם תחלים בעלי מוטיפ חזר כגון  $(CAG)_5$ ,  $(GACAC)_3$ ,  $(GACA)_4$ . בנוסף, קיימים קבוצות התאם וגטטיבי שונות. בעתיד, נמשיך להרחיב את אוסף התבדידים בכדי לקבל השוואה אמינה יותר בין נציגי האוכלוסיות השונות, מתות שדה, כלנית ועשבים שגדלים בסמיכות לשדות נגועים.

### ז. מסקנות והשלכות

תבדידי הפתוגן *C. acutatum* שבודדו בשנים 2000 עד 2003 מכלניות נגועות בשדה לא היו שונים מאלה שקיימים כבר באוסף ושייכים לפי הגדרות מורפולוגיות ואיפיונים מולקולריים למין *C. acutatum*. למרות שלא נמצאה שונות גנטית בין התבדידים שבאוכלוסיה צריך להמשיך לעקוב אחר הרכבם ולבחון שלא יגיעו ארצה מינים חדשים או תבדידים בעלי וירולנטיות יתר. נמצא חומר יעיל, פרוכלורז, להדברת גורם המחלה, אך השימוש בריכוזים גבוהים של החומר גורם לפיטוטוקסיות בצמחי כלנית, ובעתיד יכול לגרום לסלקציה לאוכלוסייה עמידה. עדיין נשאלת השאלה האם הפתוגן יכול לגרום למחלה בכלנית הבר בתנאי שדה? לצורך הבדיקה נמשיך לסייר ולבחון את הנושא בשדה ויער במקומות שצומחת כלנית הבר.

### ה. פירסומים מדעים מהמחקר

**Freeman, S., Shabi, E., and Katan, T. (2000).** Characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose disease of anemone (*Anemone coronaria* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 66:5267-5272.

ענו, ד., ורדי, י., לוריא, ג., יעקב, ב., ופרימן, ס. (2000). טיפול תרמי וטבילת פקעות כלנית להדברת מחלת האנתרקנוס. דפי מידע 5: 65-66.

### ב. מבוא ומטרות המחקר (חלק ב' – קולטוריקום בלימוניום)

תופעת התמוטטות לימוניום בערבה החלה ב- 1995 בחלקות בדדוות ומאז התפשטה לשטחי לימוניום חדשים רבים. ההתמוטטות מתרחשת במהלך חודשי הקיץ בצמחי לימוניום בוגרים. מבין הזנים הגדלים בערבה, הרגישים להתמוטטות הם הבלטלארד, מיסטי וסאן גלו. בשנים קודמות נעשה מאמץ לזיהוי הגורמים למחלה. נמצא שהפטרייה *Colletotrichum gloeosporioides* גורמת להתמוטטות. זוהי פטרייה רב פונדקאית הגורמת נזק לצמחי נוי ועצי פרי רבים. הפטרייה מנגעת בלימוניום באזור הכתר והשורשים באופן לטנטי (סמוי) במהלך חודשי החורף וגורמת להתמוטטות עם עליית הטמפרטורות בעיקר בחודשים יוני – אוקטובר. בערבה נראה שעיקר המעבר של הנבגים נעשה במהלך הקטיפים והגיזומים ממקור אילוח לצמח בריא באמצעות העובדים וכלי העבודה. דרך אפשרית נוספת להפצה היא מגע ישיר בין שורשים. במהלך שנות המחקר נעשו הניסיונות הבאים: א. אימות לכך שהקולטוריקום גורם להתמוטטות לימוניום ואפיון המין האחראי למחלה. ב. ביולוגיה והרכב אוכלוסיית הפתוגן. ג. בדיקת דרכים להדברה כימית, ביולוגית ואגרנטית של גורם המחלה.

### מטרות המחקר:

- בדיקת שונות גנטית של הפתוגן (PCR ו-VCG) וביולוגיה של גורם המחלה
- בחינת שיטה להדברה כימית, ביולוגית ואגרנטית (בטפטוף טמון)

### ג. פירוט ניסויים ותוצאות

#### 1. שונות גנטית לפי PCR ו-VCG ומציאת השלב המיני

92 תבדידים ממקורות שונים מהערבה, קיבוץ נירים והבקעה נבחנו לשונות גנטית. שתי קבוצות עיקריות נמצאו לפי שיטת ה-PCR וגם VCG. 68 השתייכו לקב' 1, 20 לקב' 2 ו-1 בודדים לקבוצות 3-6. בסה"כ נמצאו 6 קבוצות שונות. תבדידי קבוצת VCG 1 תאמה לקבוצת PCR 1, כנ"ל לגבי קבוצה 2. אלה שלא תאמו לאחת מהקבוצות העיקריות נבדלו גם כן לפי PCR ו-VCG וסווגו לקבוצות 3 עד 6, בהתאמה.

כמוכן, נמצאו גופי פרי מיניים (פריציה) של הפתוגן (*Glomerella cingulata*) בטבע, בגבעולי צמחים מתמוטטים. במהלך העבודה הצלחנו להנביט את הנבגים מיניים (אסקוספורות), כלומר, קיימת פוטנציאל הדבקה בעמרת אינוקולום זה.

## II. הדברת הפתוגן

### 1. הדברה כימית

מבין החומרים שנבדקו שערכו גידול תפטיר הפתוגן בצלחות, נבחרו ארבעה חומרים להמשך בדיקה בשדה. שניים פרוטקטנטיים - פרוכלור (אוקטב) ופלוואזינס (אוהיו) ושני טריאזולים סיסטמיים, וקטרה ואטמי. לצורך הבדיקה בשדה נשתל לימוניות בלטלרד במנהרה עבירה בעין תמר בסוף אוקטובר, והצמחים אולחו לפני שתילה בפתוגן. במהלך השבועיים שלאחר השתילה הייתה תמותה של כ- 5% מהצמחים. בצמחים לא מאולחים לא הייתה תמותה. בתחילת אפריל החלה תמותה קלה של הצמחים, כאשר במהלך החורף גידול הצמחים היה תקין. במועד זה החלו הטיפולים הכימיים. החומרים אוהיו, וקטרה ואטמי לא היו יעילים. החומר אוקטב הקטין את רמת התמותה בכל הריכחים ותדירויות היישום שנבדקו. רמת התמותה הנמוכה ביותר התקבלה בטיפול האוקטב בריכוז הגבוה, 0.2% ובתדירות הגבוהה, כל עשרה ימים. שילוב של אוקטב עם חומר סיסטמי, וקטרה לא שיפר את היעילות, רמת התמותה הייתה דומה לזו של טיפולי אוקטב לבד. הטיפול הכימי לא ריפא את הצמחים אלא הקטין כנראה את קצב ההתפשטות של הפטרייה בצמח והפחית את רמת התמותה. הפסקת הטיפולים הביאה לעלייה מהירה בתמותה. לאחר מועד היישום האחרון באוקטב החלה עלייה מהירה ברמת התמותה של כל הצמחים בטיפול זה, מ - 20% ל - 40% בתוך פחות משלושה שבועות.

בנוסף, יחס הענפים הראויים לשווק מסך הענפים לצמח היה דומה בכל הטיפולים. האילוח בקולטוטריכום הביא בצמחים שלא מתו לירידה בכמות ענפי הפריחה לצמח (40% פחיתה) לעומת הצמחים הבריאים. על אף שהשימוש באוקטב בתדירות ובמינון הגבוהים הביא לפחיתה משמעותית ברמת התמותה, נראה שהשימוש בו בצורה שנבדקה אינו כלכלי. החל מאפריל ועד אמצע ספטמבר ניתנו 17 ריסוסים של החומר שהם 6 ק"ג של חומר ההדברה לדונם.

### 2. הדברה ביולוגית

במהלך שנות המחקר הראשונות נמצא שרמת התמותה בצמחים מאולחים בריזוקטוניה הייתה נמוכה מזו של צמחי ביקורת. נבדקו שני תבדידי ריזוקטוניה: תבדיד ריזוקטוניה לא פתוגנית שסופק ע"י החוקרים דר' לאה צרור ופרופ' ברוך סנה, ותבדיד ריזוקטוניה מקומי. נבדקו מועדים שונים של אילוח בריזוקטוניה לעומת אילוח בקולטוטריכום ואילוח בריזוקטוניה בלבד על שני מיני לימוניות: בלטלרד עם 4-6 חזרות לטיפול ומיסטי לבן עם 2 חזרות לטיפול. בכל חזרה היו עשרה צמחים, מועד השתילה - 27/10. בניגוד לניסויים שנעשו בעבר, לא הייתה כמעט תמותה בצמחי ביקורת לא מאולחים של לימוניות בלטלרד. גם בצמחים שאולחו בריזוקטוניה בלבד לא נצפתה תמותה. אילוח משותף בקולטוטריכום וריזוקטוניה או אילוח הצמחים בקולטוטריכום כחודש לאחר האילוח בריזוקטוניה הפחית במידת מה את התמוטטות.

בצמחי לימוניות מיסטי הייתה תמותה גבוהה בחלקות הביקורת לעומת החלקות המאולחות בשני תבדידי הריזוקטוניה שנבדקו. בשל העובדה שמספר החזרות לטיפול בניסוי עם לימוניות מיסטי היה קטן לא ניתן היה לעשות ניתוח סטטיסטי לתוצאות. מהתוצאות נראה שהריזוקטוניה אינה מגינה על הצמח לאחר אילוח מכון בקולטוטריכום אך יש לה פוטנציאל להקטנת רמת התמותה בצמחים המאולחים באקראי בקולטוטריכום במהלך העונה. יש צורך בהמשך בדיקת הנושא.

### 3. הפחתת המחלה באמצעות שיטת השקיה (טפטוף טמון).

להתפתחות המחלה בצמח דרושים תנאי רטיבות לצורך נביטת נבגי הפטריה וחדירתם לצמח כאשר ייבוש אזור הכתר יקטין את התפתחות המחלה. ייבוש אזור הכתר הושג ע"י השקיה בטפטוף טמון בעומק 30 ס"מ. בוצעו שני ניסויים לבחינת טפטוף טמון על התפתחות המחלה והעברת הגורם מצמח לצמח. בניסוי הראשון שבוצע בתחנת הניסיונות בעין תמר, שני צמחי הזן בלטלארד מכל עשרה צמחים בשורה אולחו בקולטוטריכום והצמחים הועברו להשקיה בטפטוף טמון כשלושה חודשים משתילה ע"י הטמנת צינוריות 4 מ"מ בעומק 30 ס"מ. המגמה של תמותת צמחים הייתה נמוכה בצמחים שהושקו בטפטוף טמון לעומת עילי בשנת 1999 ו-2000 (טבלה מס' 1).

#### טבלה מס' 1. ניסוי בטפטוף טמון בעין תמר

טיפול	מס. חזרות	תמותה סוף 99	תמותה סוף 2000
טמון	4	a 0.172079	a 0.219172
לא טמון	4	b 0.456728	b 0.741595

בניסוי השני שנערך בתחנת יאיר בערבה והחל ב- 01/09 נבדקה רמת התמותה של צמחי הזן בלטלארד המושקים באמצעות טפטוף עילי וטפטוף טמון. התפתחות הצמחים המאולחים הייתה מעוכבת וכ- 50%, מהם מתו זמן קצר לאחר המעבר לטפטוף טמון. במהלך השנה נערכו מספר בדיקות להערכת רמת אילוח הצמחים בשדה כתלות בשיטת ההשקיה והמרחק ממקור האילוח (טבלה מס' 2). גורם המחלה נמצא גם בצמחים המושקים בטפטוף טמון אך הלך ופחת בהמשך. קל היה לבודד את גורם המחלה מכתרי הצמחים במהלך עונת החורף וככל שהתחמם הלך ופחת מספר הצמחים בהם נמצא גורם המחלה (בניגוד למופע המחלה).

#### טבלה מס' 2

ניתוח סטטיסטי להשפעת עמדת הצמח בטיפול בלטלרד עילי – תחנת יאיר

עמדה	ממוצע מתים (%)	ניתוח לפי סטודנט
0	95.6944	a
1	53.0637	b
4	29.3939	c
2	27.0833	c

cd	18.8889	6
cd	16.6667	3
d	4.1667	5
d	0	7
d	0	8

ככל שהצמח קרוב לעמדת צמח מאולח (0) הסיכוי שלו להתמוטט גדלים.

ד. מסקנות והשלכות

שונות גנטית נמצאה בין תבדידים ממקורות שונים מהערבה, קיבוץ נירים והבקעה. נמצאה התאמה מלאה בין VCG לבין קבוצת PCR דבר המצביע על מהימנות שיטות הבדיקה. מקור השונות הגנטית יכול לנבוע ממקורות המדבק שהרי צמחי הלימוניות מיובאים ממקומות שונים בעולם (כגון: יפן, הודו, הולנד וטייוון). משמעות השונות יכול להתבטא בעמידות לחומרי הדברה כפי שכבר דיווחנו, עיקר התבדידים עמידים לבנימיחזולים. מציאת השלב המיני יכול לתרום גם כן לשונות הגנטית. כמוכן, נמצאו גופי פרי מיניים (פריציה) של הפתוגן (*Glomerella cingulata*) בטבע, בגבעולי צמחים מתמוטטים. משמעות קיום השלב המיני ונוכחות נבגים מיניים על פוטנציאל ההדבקה חייבת להיבדק.

נבחנו מספר דרכים להקטנת הנזק מקולטוטריכוס בלימוניות. מניעת הדבקת הצמח באמצעות הגנה ביולוגית נראה כבעל פוטנציאל. מהתוצאות נראה שהריזוקטוניה אינה מגינה על הצמח לאחר אילוח מכוון בקולטוטריכוס אך יש לה פוטנציאל להקטנת רמת התמותה בצמחים המאולחים באקראי בקולטוטריכוס במהלך העונה. יש צורך בהמשך הבדיקה בנושא. הנושא צריך עדיין להילמד מבחינת אופן מועד ההדבקה (שלב המשתלה או השדה) והשפעה לאורך זמן.

על פי התוצאות נראה שגורם המחלה יכול לעבור בין הצמחים גם בהשקיה בטפטוף טמון או שהוא הספיק לעבור לצמחים הלא מאולחים לפני המעבר לטמון. אנו מניחים שהפטריה מועברת בין הצמחים באמצעות גיזומים, תנועת נבגים עילית בין הצמחים המתאפשרת עקב רטיבות החלק התחתון של הצמחים במהלך חודשי החורף ומעבר ע"י מגע שורשים. בצמחי לימוניות המושקים בטפטוף טמון בהם נחסמה אפשרות מגע השורשים עם צמחים שכנים לא נמצאה הפטריה בדוגמאות רקמת הצמח שנבדקו אך נמצאה ברקמת צמחים המושקים בטפטוף עילי. למרות שהפטריה נמצאה בניסוי זה גם בצמחים המושקים בטפטוף טמון, מופע המחלה במהלך הקיץ היה דומה לזה של הניסוי בעין תמר. בלימוניות בלטלרד נמצא קשר בין קרבת הצמח למקור האילוח ורמת התמותה. מבין השיטות שנבחנו, הטמנת הטפטוף לצורך יבוש אזור הכתר הפחיתה במידה הרבה ביותר את רמת המחלה בשדה. לגידול הצמחים בשיטה זו השלכות אגרוטכניות אשר צריכות עדיין להילמד. בתצפית ראשונית נראה שלהרחקת הטפטוף מאזור הכתר תוצאות דומות לאלו המתקבלות בטפטוף טמון.

## ה. פירסומים מדעים מהמחקר:

Pivonia, S., Levita, R., Tzuberi, G., Zviebil, A., Nizani, Y., and **Freeman, S.** (2000). Decline of perennial *Limonium* cultivars caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytoparasitica* 28:286-287.

פירסומים נוספים נמצאים בהכנה.

## סיכום לדו"ח (חלק א')

### 1. מטרות המחקר:

בחינת מקור המידבק, מציאת טיפולי הדברה יעילים, אפיון תבדידים מכלנית, בחינת ספציפיות לפונדקאי וחיפוש קולטוטריכום בכלנית הבר.

### 2. עיקרי הניסויים ותוצאות

מספר רב של תבדידים נאספו מצמחים נגועים בפתוגן מכלנית, תות שדה ועשבי בר, ובכל המקרים גורם המחלה הוגדר כ- *C. acutatum* לפי שיטות מורפולוגיות ומולקולריות. נוסו טיפולי אוקטב על פיטוטוקסיות בכלנית והדברת גורם המחלה בפקעות. נערכו ניסויי חממה בהדבקת שתילים. נערכו טיורים לחיפוש המחלה בכלנית הבר אך לא נמצאו צמחים נגועים בטבע.

### 3. מסקנות והשלכות

תבדידי הפתוגן אופיינו למין *C. acutatum*. נמצא שהחומר פרוכלור יעיל בהדברת גורם המחלה אך במינונים מסוימים הינו פיטוטוקסי לכלנית. בהדבקות מלאכותיות נמצא שתבדידי הפתוגן מכלנית גורמים מחלה בתות שדה וההפך. בודדו מספר תבדידים ישירות מפקעות, מעשבי בר קייצת ובקיה, אך לא נמצאו צמחי כלנית בר נגועים במחלה. עדיין נשאלת השאלה האם הפתוגן יכול לתקוף כלנית הבר.

### 4. בעיות שנותרו לפתרון

המשך בחינת מקור המידבק וחיפוש הפתוגן בכלנית הבר. המשך בחינת טיפולי הדברה. המשך אפיון אוכלוסיית הפתוגן.

### 5. הפצת ידע

**Freeman, S., Shabi, E., and Katan, T.** (2000). Characterization of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose disease of anemone (*Anemone coronaria* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 66:5267-5272.

ענו, ד., ורדי, י., לוריא, ג., יעקב, ב., ופרימן, ט. (2000). טיפול תרמי וטבילת פקעות כלנית להדברת מחלת האנתרקנוס. דפי מידע 5: 65-66.

## סיכום לדו"ח (חלק ב')

### 1. מטרות המחקר:

לימוד ביולוגיה והרכב אוכלוסיית הפתוגן. בחינת מספר דרכים להקטנת הנזק מקולטוריכום בלימוניום. בחינת שיטות של הדברה ביולוגית והדברה בשיטות אגרוטכניות.

### 2. עיקרי הניסויים ותוצאות

נמצאו מספר גנוטיפים וקבוצות VCG שונים מבין אוכלוסיית הפתוגן. בודד השלב המיני של גורם המחלה. המדביר הביולוגי לא היה יעיל בהפחתת חומרת המחלה. השקיה בטפטוף טמון הפחיתה את אחוז המחלה. בתצפית ראשונית נראה שלהרחקת הטפטוף מאזור הכתר תוצאות דומות לאלו המתקבלות בטפטוף טמון.

### 3. מסקנות והשלכות

לאחר אפיון אוכלוסיית הפתוגן נמצאה שונות גנטית שנובע מקיום השלב המיני. כמוכן, שונות הגנטית יכולה לנבוע ממקורות שונים של מידבק המגיעים לישראל ממקומות שונים בעולם. החומר הכימי פרוכלור לא היה כלכלי ביישומו להפחתת מחלה. מניעת הדבקת הצמח באמצעות הגנה ביולוגית נראה כבעל פוטנציאל. הנושא צריך עדיין להילמד מבחינת אופן מועד ההדבקה (שלב המשתלה או השדה) והשפעה לאורך זמן. טיפטוף טמון היא שיטה אגרוטכנית חדישה בעלת פוטנציאל להפחתת מחלה זו בלימוניום.

### 4. בעיות שנתקו לפתרון

קיים צורך לבחון גישות נוספות, כימיות ביולוגיות ואגרוטכניות להדברת גורם המחלה ולייסד את הטפטוף הטמון בגידול להמניעת פיזור גוקם המחלה. פוטנציאל ההדבקה של הנבגים המיניים ומשמעות קיום השלב המיני חייבים להיבדק.

### 5. הפצת ידע לתקופת הדווח

Pivonia, S., Levita, R., Tzuberi, G., Zviebil, A., Nizani, Y., and Freeman, S. (2000). Decline of perennial *Limonium* cultivars caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytoparasitica* 28:286-287.

פירסומים נוספים נמצאים בהכנה.